

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Врубель Ольги Романівни на тему «Фармакогностичне дослідження бруслини європейської (*Euonymus europaea L.*)», представлену до спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02- фармацевтична хімія та фармакогнозія

Актуальність теми. Важливим завданням сучасної фармацевтичної науки є дослідження лікарських рослин в плані вивчення їх біологічно активних речовин (БАР), встановлення фармакологічної активності отриманих біологічно активних субстанцій для розробки нових лікарських засобів. Актуальним напрямком сучасної системи пошуку, розробки та впровадження нових лікарських засобів рослинного походження є дослідження рослинних засобів народної медицини. Одними із таких видів є представники роду Бруслина (*Euonymus L.*), які здавна використовують в народній медицині як засоби із протизапальними, антипаразитарними, проносними та жовчогінними властивостями.

Рід Бруслина (*Euonymus L.*) відноситься до родини Бруслинові (*Celastraceae Lindl.*), включає близько 200 видів. На території України зростає 10 видів цього роду, але широко розповсюджені лише 2 із них, а саме бруслина (б.) європейська (*Euonymus (E). europaea L.*) та б. бородавчаста (*E. verrucosa Scop.*). Відповідно до останніх літературних даних встановлено, що найбільш досліджуваними БАР рослин роду *Euonymus L.* є алкалоїди, сесквітерпени, флавоноїди, жирна олія, білки, зокрема лектини. Екстракти, отримані з різних сировинних органів рослин цього роду, проявляють антиоксиданту, антирадикальну, антимікробну дію та інсектицидну активність.

Найбільше практичне значення на сьогоднішній день на території України має б. європейська як джерело нової групи БАР – лектинів. Із

насіння цієї рослини отримано лектин, вивчено його основні фізико-хімічні властивості, вуглеводна специфічність, можливість застосування у гістохімічних дослідженнях та судовій медицині. В той же час, у корі цієї рослини також виявлений лектин, але методика його одержання в літературі не описана. Тому важливим завданням є розробка методу його виділення із кори, очистка та дослідження біохімічних властивостей в порівнянні з лектином насіння.

Незважаючи на великий потенціал роду бруслина як перспективного джерела БАР, відсутнє системне фармакогностичне вивчення представників цього роду, зокрема, б. європейської, яка найбільш поширена на території України.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планами проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (№ державної реєстрації 0116U004500, шифр теми ІН 10.06.0001.16)

Наукова новизна одержаних результатів. Автором вперше проведено комплексне дослідження б. європейської. За допомогою якісних реакції, тонкошарової (ТШХ), газової (ГХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ-МС) та імунохімічних реакцій (реакція гемаглютинації та пригнічення гемаглютинації) було встановлено наявність в об'єктах дослідження в значних кількостях лектинів, жирних кислот, а також токоферолів, каротиноїдів, стероїдів, сквалену та інших сполук терпенової природи.

Автором було вперше одержано лектин з кори б. європейської та здійснено його очистку використовуючи методи осадження, діалізу, центрифугування, афінної, іонообмінної та гель-хроматографії, ліофільного висушування. Здійснено порівняльний аналіз лектинів, виділених з кори та насіння рослини. Встановлено ідентичність одержаних лектинів з

використанням сучасних методів електрофорезу, взаємодії з еритроцитами, визначенням вуглеводної специфічності та використанням у гістологічних дослідженнях.

Автором вперше досліджено хімічний склад жирної олії насіння рослини, отриманої шляхом екстракції гексаном, методом ГХ-МС. Методом спектрофотометрії в жирній олії визначено вміст токоферолів (40 ± 5 мг% в перерахунку на α -токоферол) та каротиноїдів (26 ± 5 мг% в перерахунку на β -каротин).

Методом високоефективної хроматографії з УФ-детекцією з оберненою фазою (RP-HPLC UV) автором вперше виявлено та визначено кількісний вміст сквалену у жирній олії насіння рослини, що складає 1,84 мг/мл.

З використанням ГХ-МС здійснено аналіз ліпофільних речовин, екстрагованих петролейним ефіром з листя та квіток б. європейської. Всього у квітках рослини виявлено 28 сполук, а в листі – 19. Кора, квітки і листя б. європейської характеризуються високим вмістом парафінових вуглеводнів. Їх вміст є найвищим у квітках (понад 50% від усіх ліпофільних речовин), а в листі і корі складає біля 35%.

Для стандартизації нових видів ЛРС автором проведено морфолого-анатомічний аналіз сировинних органів б. європейської, встановлені основні діагностичні ознаки листя, кори і насіння рослини.

Вперше вивчена гостра токсичність жирної олії насіння б. європейської, а на моделі неалергічного контактного дерматиту досліджена протизапальна активність в порівнянні з олією обліпихи.

Новизну досліджень підтверджено та захищено патентом України на корисну модель «Спосіб одержання лектину бруслини європейської (*Euonymus europaea* L.)». № 59331 від 10.05.2011 р.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертантом розроблено технологічну схему комплексної переробки насіння б. європейської, яка передбачає сумісне отримання лектину і жирної олії. За результатами, одержаними автором у ході проведення дисертаційної роботи,

розроблено «Лабораторний регламент одержання лектину з кори бруслини європейської (*Euonymus europaeus L.*)».

Насіння бруслини європейської автором дисертації запропоновано у якості нового виду ЛРС як джерела біологічно активної субстанції – жирної олії, опрацьовано критерії та параметри її стандартизації і підготовлено проекти МКЯ «Бруслини європейської насіння», «Бруслини європейської олія насіння» та «Інструкції із заготівлі та сушіння насіння бруслини європейської», «Інструкції із заготівлі та сушіння кори бруслини європейської».

Результати наукових досліджень впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського; кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету; кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця; кафедри гістології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз літературних даних щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічних властивостей, особливостей використання б. європейської. Проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР б. європейської, підготовку проб для проведення ГХ, ГХ-МС, ВЕРХ та фармакологічних досліджень. Досліджено морфолого-анатомічні особливості будови листя, кори та насіння досліджуваної рослини та розроблено проекти МКЯ на нові перспективні види лікарської рослинної сировини та субстанції, одержані із них. Обґрунтовано технологію спільного одержання лектинів та ліпофільних сполук із кори та насіння бруслини європейської. Здійснено статистичну

обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів, оформлено усі розділи дисертаційної роботи. Дисертантом взято безпосередню участь в оформленні статей, тез доповідей та патенту України на корисну модель.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Аналіз матеріалів дисертаційної роботи показує, що дослідження виконані на сучасному науковому рівні. Всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертації базуються на експериментальному матеріалі та логічно витікають з одержаних результатів. Загальні висновки до дисертації викладені чітко, стисло і повністю відображають результати проведеної роботи, а їх достовірність не викликає сумніву.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць, із яких 6 статей (3 статті у міжнародних фахових виданнях (1 – Естонія та 2 – Індія), 1 – у виданні, що включене до міжнародних наукових баз даних, 1 – у фаховому науковому виданні України), 7 тез доповідей та 1 патент на корисну модель.

Опубліковані роботи і автореферат повністю відповідають основним положенням дисертації.

Структура, зміст і оформлення дисертації. Зміст та структура дисертації відповідають вимогам, що висуваються до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук згідно з п.10 «Порядку присудження наукових ступенів», що затверджений Кабінетом Міністрів України (постанова № 567 від 24.07.2013 р.).

Дисертаційна робота Врубель О.Р. викладена на 173 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 8 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 137 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 25 таблицями, 44 рисунками. Список використаних джерел містить 195 найменувань, з них 69 кирилицею та 126 латиницею.

Вступ дисертаційної роботи включає дані щодо актуальності, мети роботи, наукової новизни та практичного значення, особистого внеску, апробації результатів, структури та обсягу дисертації. Мета дослідження сформульована чітко і має достатню теоретичну обґрунтованість. Завдання, поставлені дисертантом для досягнення мети конкретні, спрямовані на комплексне вирішення проблеми, що вивчалася.

Огляд літератури присвячений аналізу джерел літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу біологічно активних речовин бруслини європейської та інших представників роду Бруслина.

У другому розділі наведені дані щодо об'єктів, реактивів, приладів, методів та методик досліджень.

У третьому розділі наведені результати дослідження хімічного складу різних груп біологічно активних речовин у корі, насінні, листі та квітках бруслини європейської. Наведені результати дослідження лектину, одержаному із кори бруслини європейської. Розроблено схему комплексного одержання біологічно активних речовин кори, що передбачає екстракцію ліпофільних фракцій етанолом та хлороформом після виділення лектину, що сприяє раціональному використанню сировини. Результати дослідження жирної олії включають визначені її числові параметри, вміст каротиноїдів, токоферолів, сквалену та інших сполук ліпофільної природи. Наведені також результати дослідження хімічного складу ліпофільних фракцій листя та квіток бруслини європейської. Представлено дані визначення основних мікроелементів у листі і корі бруслини європейської.

Четвертий розділ включає у себе дані щодо дослідження гострої токсичності, фармакологічної дії на моделі неалергічного контактного дерматиту на моделі цього захворювання у щурів, а також дослідження протимікробної активності екстрактів листя, кори, насіння, квіток та жирної олії насіння.

У п'ятому розділі наведені результати морфолого-анатомічного дослідження для встановлення макро- та мікроскопічних ознак для

ідентифікації та диференціації бруслини європейської. Використовуючи результати досліджень, представлені у дисертації, розроблено параметри стандартизації та оформлено проекти МКЯ на насіння та жирну олію насіння, а також інструкції по заготівлі та сушінні насіння та кори бруслини європейської.

При виконанні дисертаційної роботи Врубель О.Р. повністю виконані усі поставлені завдання дослідження та вирішено поставлену проблему.

Представлена до захисту робота Врубель О.Р. виконана на високому науковому рівні, добре ілюстрована та структурована. Усі положення, викладені у роботі, базуються виключно на одержаних автором експериментальних результатах.

Автореферат за структурою та змістом відповідає дисертації.

Зауваження та пропозиції. Хоча актуальність, наукове та практичне значення роботи Врубель О.Р. не викликає сумніву, слід розглянути деякі зауваження та побажання:

1. Загалом структура дисертації відповідає поставленим завданням, але основні її розділи відрізняються за обсягом.
2. Підготовлені проекти МКЯ бажано подавати у вигляді таблиці.
3. У дисертації відсутній проект МКЯ на кору бруслини, чи плануєте підготовку цього документу?
4. У дисертаційній роботі зустрічаються поодинокі літературні помилки, невдалі вирази та застарілі назви БАР.

У порядку проведення наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертант дала відповіді на наступні запитання:

1. Чи Ви виявили лектини у інших сировинних органах бруслини європейської – в першу чергу у квітках, листі, коренях?
2. Чи залежить вміст лектинів як групи БАР від регіону зростання, місця заготівлі, умов зростання, висушування?
3. Обґрунтуйте перспективи використання лектинів як лікарських засобів.

4. Чи існує кореляція між вмістом лектинів та інших груп БАР?

Висновок про відповідність дисертації вимогам «Положення про присудження наукових ступенів».

Дисертаційна робота Врубель Ольги Романівни на тему «Фармакогностичне дослідження бруслини європейської (*Eiopusus europaеа L.*)» є закінченою науковою працею, у якій одержано нові дані щодо пошуку та дослідження нових джерел біологічно активних речовин. Дана робота за актуальністю, теоретичним і практичним значенням, використанням сучасних методів дослідження, їх обсягом повністю відповідає сучасним вимогам до кандидатських дисертацій згідно «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України 24.07.2013 р., а її автор – Врубель Ольга Романівна – заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії

ПВНЗ «Київський медичний університет»,

д.фарм наук, проф.



О.Ю.Коновалова